

团 体 标 准

T/CSES XXXX—XXXX

水生生物环境 DNA 实验室建设技术要求

Technical requirements for the construction of aquatic environmental DNA
laboratory

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国环境科学学会 发布

目 次

前 言	II
引 言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 总体原则	2
5 分区设置要求	2
5.1 试剂储存和制备室	2
5.2 前处理室	2
5.3 提取纯化室	3
5.4 检测室	3
5.5 质量控制室	3
5.6 数据分析室	3
5.7 其他分区	3
6 实验室操作要求	3
7 房屋配件、实验室辅助设施要求	4
7.1 门窗	4
7.2 地面、墙面要求	4
7.3 顶棚	4
7.4 走道	4
7.5 缓冲区	4
7.6 实验台	4
7.7 物品架	4
7.8 紫外灯	5
附 录 A （规范性） 环境 DNA 实验室典型布局图	6
A.1 环境 DNA 实验室典型布局图 1	6
A.2 环境 DNA 实验室典型布局图 2	6
A.3 环境 DNA 实验室典型布局图 3	7
A.4 环境 DNA 实验室典型布局图 4	7

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国环境监测总站提出。

本文件由中国环境科学学会归口。

本文件起草单位：中国环境监测总站

本文件主要起草人：

引 言

环境DNA技术广泛用于水生生物监测，该技术能够实现水生态系统中浮游植物、浮游动物、水生维管植物、大型底栖无脊椎动物和鱼类等水生生物的精准监测。环境DNA实验室建设的规范化可为环境DNA水生生物监测方法的标准化提供良好的条件与保障。

为促进环境DNA技术的标准化以及在我国生物多样性监测体系中的应用推广，规范水生生物环境DNA实验室建设，制定本文件。

水生生物环境 DNA 实验室建设技术要求

1 范围

本文件规定了环境DNA实验室建设的总体原则、实验室分区、实验室操作、房屋配件、实验室辅助设施等方面的技术要求。

本文件适用于环境DNA实验室的新建、改建和扩建的设计、建设，包括但不限于环境监测中心、高校和第三方检测机构等。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682-1992 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15481-2000 检测和校准实验室能力的通用要求

GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求

GB/T 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第1部分：通用要求

GB/T 32146.3-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第3部分：食品实验室

SN/T 4835 实验室生物废弃物管理要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

水生生物 hydrobiont

全部或部分生活在各种水域中的动物和植物。包括淡水生物和海洋生物。

3.2

环境DNA environmental DNA; eDNA

环境介质（水、土壤、沉积物、生物膜、空气等）或混合生物组织中存在的生物遗传物质（DNA）。

[来源：T/CSES 81—2023, 3.3]

3.3

环境DNA实验室 environmental DNA Laboratory

利用环境DNA技术进行生物多样性样品处理、检测的实验室。

4 总体原则

环境 DNA 实验室的功能布局、分区隔离、空调通风系统、气流控制等应以避免污染为首要原则。

- a) 实验室宜以室为单元,进行布局规划和功能分区,一般应包括以下单元:试剂储存和制备室、前处理室、提取纯化室、检测室、质量控制室和数据分析室。环境 DNA 实验室的典型布局图见附录 A。
- b) 试剂储存和制备室、提取纯化室、检测室和质量控制室应具备移液、涡旋振荡、瞬时离心功能。移液器需包含 1~10 μ l、1~20 μ l、20~200 μ l 和 100~1000 μ l 的规格,根据需求选配 0.1~2.5 μ l、1~100 μ l 或其他规格移液器。涡旋振荡速度通常不小于 1000 rpm/分,瞬时离心速度不小于 1000 rpm/分。
- c) 遵守样品单向流动原则。
- d) 有条件的实验室宜在各工作区域设置缓冲间,实验室定期通风。
- e) 工作人员应自觉遵守实验室规章制度,实验操作中戴一次性手套、口罩,在前处理室和提取纯化室操作时要穿隔离衣、戴防护眼镜。
- f) 正确配制消毒液,定期对工作环境消毒。

5 分区设置要求

5.1 试剂储存和制备室

应具备纯水制备、冷冻/冷藏储存、称量、磁力搅拌、制冰和水浴等功能。纯水制备应符合 GB/T 6682 1992 中一级水的规格,去离子水的电阻应达到 18.2 Ω 。冷冻储存需具备-20 $^{\circ}$ C和-80 $^{\circ}$ C条件,冷藏储存需具备 4 $^{\circ}$ C条件。称量精度为万分之一。磁力搅拌转速应不小于 2000 rpm/分。制冰机出冰速度应不低于 30kg/天。水浴温度最大允许误差为 \pm 0.5 $^{\circ}$ C。

面积应不小于 5 m²。含核酸的样品禁止带入本室。所有试剂及原材料应直接进入本室,不能经过前处理室、提取纯化室、检测室、质量控制室和数据分析室。

5.2 前处理室

应具备样品储存、样品过滤、冻干、称量、组织处理和烘干等功能。样品储存需满足 4 $^{\circ}$ C和-20 $^{\circ}$ C储存条件。针对不同类型样品设置不同操作功能区,如环境水样处理操作区,土壤、粪便、沉积物样品操作区,生物组织样品操作区等。水样过滤负压应达到-0.9 KPa 以下,需适配环境 DNA 一体化过滤器,宜具备废液直排功能。土壤、粪便、沉积物冷冻干燥的温度应不高于-40 $^{\circ}$ C,干燥过程中的升华温度应不高于 60 $^{\circ}$ C。称量功能参考 5.1 要求。烘箱温控范围应满足室温~300 $^{\circ}$ C,温度控制精度最大允许误差为 \pm 0.5 $^{\circ}$ C,烘箱容积不小于 100L。

面积应不小于 5 m²。需负压,宜安装排风系统,如万向排风罩。本区域属于高污染区,严禁将核酸样品带入本实验室。

5.3 提取纯化室

应具备均质破碎、水浴、离心、涡旋振荡、储存等功能。均质破碎应满足一体化环境 DNA 过滤器和普通滤膜均质模式，均质速度通常不小于 6 m/s，单次均质样本不低于 6 个。可选水浴、气浴和金属浴等进行孵育，温度控制精度最大允许误差为 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，孵育容积不小于 3 L。离心速度需 ≥ 3500 rpm。DNA 储存应满足 -20°C 或 -80°C 储存条件。

面积应不小于 8m^2 。需负压，宜安装排风系统，如万向排风罩。DNA 检测体系在此区域配制，必须盖好含主反应混合液的反应管，再进入质量控制区。

5.4 检测室

应具备 PCR 扩增、核酸高通量测序、核酸定量检测等功能。宜根据功能设置实验分区。需配备 PCR 扩增仪、高通量测序仪、荧光定量 PCR 仪、数字 PCR 仪等。

面积应不小于 10m^2 。需负压，宜安装排风系统，如万向排风罩。本区域主要为精密设备，应避免集中摆放，防止工作过程中的震动产生相互影响。

5.5 质量控制室

应具备凝胶电泳、胶图扫描、混库、核酸浓度测定等功能。胶块制备通常使用微波快速加热，电泳电压应满足 100~220V 范围调节，胶图拍照分辨率不低于 1080p。混库移液精度 $1\mu\text{L}$ 最大允许误差为 $\pm 10.0\%$ ， $10\mu\text{L}$ 最大允许误差为 $\pm 1.2\%$ 。浓度测定需配备荧光检测仪或微量分光光度计。

面积应不小于 4m^2 。需负压，宜安装排风系统，如万向排风罩。本区域属于高污染区，可采用负压或排风扇减少污染扩散，必要时，可配置可移动紫外消毒设备。

5.6 数据分析室

应具备高通量测序数据分析、数据存储、数据备份等功能。数据分析服务器应具备运行内存不小于 32G，硬盘容量不小于 10T。服务器上需安装可视化的数据分析软件系统，并配备本土物种数据库。测序数据应至少备份 1 份。数据分析过程需注意数据安全。

面积应不小于 4m^2 。

5.7 其他分区

除主要功能区外，环境 DNA 实验室可配备消洗室、更衣室等。消洗室应具备试剂耗材灭菌、除酶，生物样品灭菌处理等功能，应安排在有上下水的角落位置，但不宜与高温室或较强电磁干扰的房间相邻。更衣室用于更换实验服、鞋子以及存放个人物品等。

6 实验室操作要求

样品应按照实验室功能分区单一方向，低核酸污染区到高核酸污染区方向流动。

实验操作人员应具备良好的分子生物学专业技术操作规范，自觉遵守实验室规章制度。非实验室工

作人员未经允许不得进入实验室。

实验操作过程中，操作者须穿戴该区的实验服、口罩、手套、鞋套和一次性帽子，鞋套和帽子根据功能区需求穿戴。

应按照实验操作程序开展实验，应特别注意防止样品交叉污染。实验前后应及时台面消毒、废弃物处理等，参照 GB/T 19495.2-2004 的相关规定执行。

样品 DNA 提取过程应选用有效提取环境 DNA 的处理方法，否则将影响后续 PCR 扩增反应。操作过程涉及到微生物安全的内容，按 GB19489-2008 的规定执行。

7 房屋配件、实验室辅助设施要求

7.1 门窗

按照 GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第 8 章设置实验室门窗尺寸。

实验室门扇应设观察窗，有特殊要求的房间的门洞尺寸应按具体情况确定。各个实验室的门须保证实验人员和设备进出方便。

有空调、洁净要求的房间设置外窗时，应为双层密闭窗。

7.2 地面、墙面要求

按照 GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第 8 章设置实验室地面、墙面。

实验室整体要求防尘、防腐蚀，地面耐磨、防滑，并按要求采取防静电措施。

7.3 顶棚

实验室不宜设置吊顶，顶棚应选用易清洁、防尘的难燃材料。

7.4 走道

按照 GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第 8 章设置实验室走道。走道应直接通向出口，且保证实验人员和货运车辆通过。

7.5 缓冲区

有条件的实验室宜设置缓冲区，缓冲区的压力为负压（或上设抽风装置），与其相连的工作间为正压，工作区与缓冲区之间宜安装磁性连锁装置受实验场所限制而无条件设置缓冲间的实验室。

缓冲区的面积不能大于实验室房间面积的 1/8。通常设置于清洁区与污染区之间，保证有效隔离。

7.6 实验台

按照 GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第 8 章设置实验台。

根据实验室规模设置实验台的结构和布局。

7.7 物品架

按照 GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第 8 章设置物品架。

7.8 紫外灯

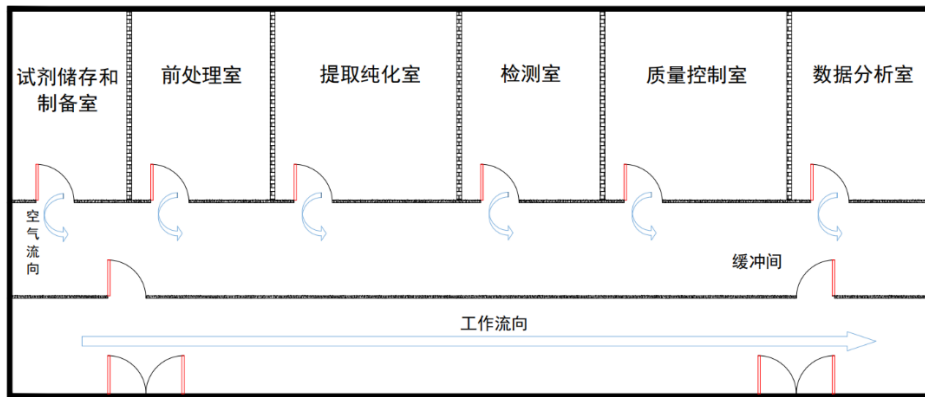
每个实验室工作区域的顶部应安装紫外灯，紫外灯波长、数量和长度标准参照 GB/T 19495.2-2004 实施。易污染区域可设置移动紫外消毒车。

附录 A

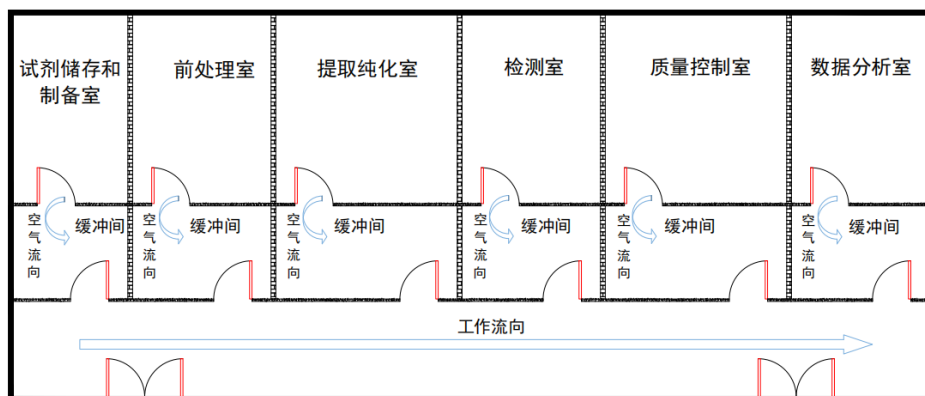
(规范性)

环境 DNA 实验室典型布局图

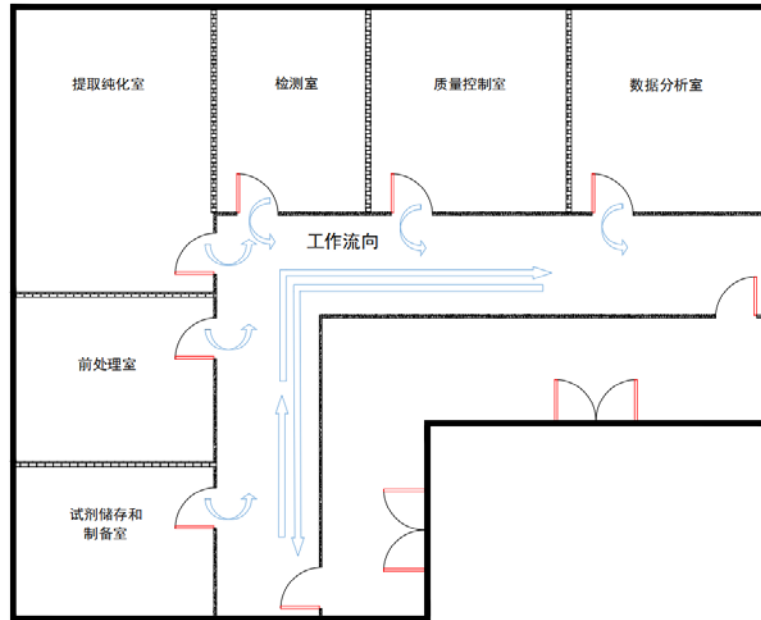
A.1 环境 DNA 实验室典型布局图 1



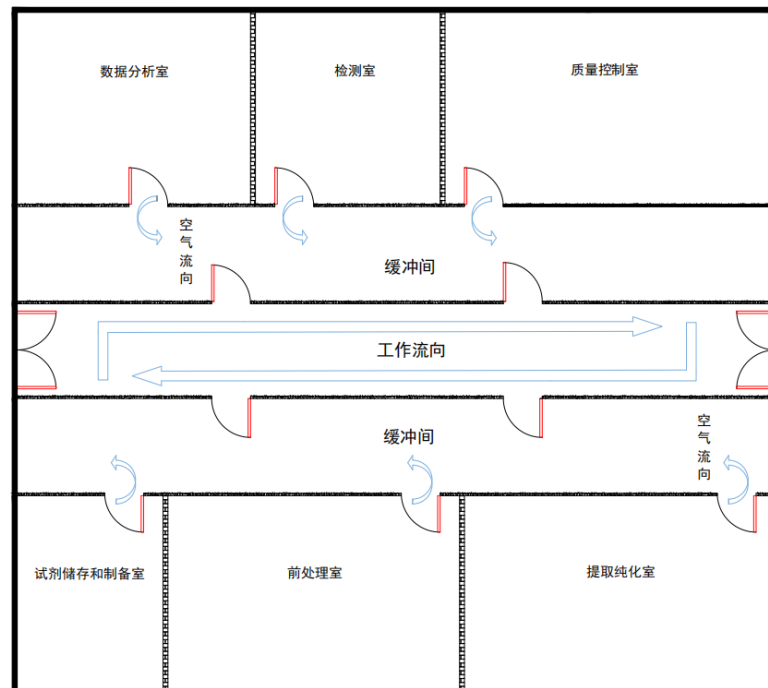
A.2 环境 DNA 实验室典型布局图 2



A.3 环境 DNA 实验室典型布局图 3



A.4 环境 DNA 实验室典型布局图 4



T/CSES XXXX—XXXX
